

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 547.9:612.397:678.012

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ОКСАЛИПЛАТИНА

**А.В. Стадниченко^{1,@}, научный сотрудник, Ю.М. Краснопольский^{1,2},
профессор, В.И. Швец^{1,3}, заведующий кафедрой**

¹ ООО «Технология лекарств», г. Химки, Московская область, 141400 Россия

² Кафедра биотехнологии и аналитической химии Национального технического университета «Харьковский политехнический институт», Харьков, 61002 Украина

³ Кафедра биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119571 Россия

@ Автор для переписки, e-mail: alstn@mail.ru

Работа посвящена обзору лабораторных методов получения липосом с оксалиплатином и их эффективности в экспериментах in vivo и in vitro. Проведен анализ существующих методов получения и дана оценка их применимости в фармацевтической промышленности для производства липосомальной формы оксалиплатина.

Ключевые слова: оксалиплатин, фосфолипиды, лекарственные субстанции, липосомальные препараты, фармацевтическая промышленность.

SOME ASPECTS OF LIPOSOMAL OXALIPLATIN FORMULATIONS

A.V. Stadnichenko^{1,@}, Yu.M. Krasnopol'skiy^{1,2}, V.I. Shvets^{1,3}

¹ Drugs Technology Ltd., Khimki, Moscow region, 141400 Russia

² National Technical University "Kharkiv Polytechnic Institute", Kharkov, 61002 Ukraine

³ M.V. Lomonosov Moscow University of Fine Chemicals Technologies, Moscow, 119571 Russia

@ Corresponding author e-mail: alstn@mail.ru

Methods for creations of oxaliplatin liposomal form in laboratory scale are discussed in this mini-review. Analysis of existed methods has been carried out, and the estimation of their usage in pharmaceutical industry view has been given. Oxaliplatin is one of the modern anticancer medicines, which is used both in monotherapy and in combination with other anticancer agents. One of the disadvantages of oxaliplatin as an anticancer drug is high neuro- and cardiotoxicity, which can be reduced by the creation of its liposomal form. In most methods, PEG-conjugated lipids were used as a part of phospholipids' bilayer. Cationic liposomes modified with DSPE (distearoyl phosphatidyl ethanolamine)-PEG₂₀₀₀ with composition PC (phosphatidyl choline)/Chol (cholesterol)/DSPE-PEG₂₀₀₀ (2/1/0.2 molar ratio) showed in vivo higher efficiency against human carcinoma SW480 line on mice both in comparison with a control group and with a free oxaliplatin treated group. Moreover, the absence of cachexia, in case of liposomal oxaliplatin was noted. Also, the influence of Chol on liposomes stability was studied. It was discovered that addition of 40% mol of Chol to liposomes with HSPC (hydrogenated soybean PC)/DSPC-PEG₂₀₀₀ increased encapsulation by 8% within 24 h at 37°C. Comparison of trehalose and L-arginine for liposomes HSPC/Chol/PEG₂₀₀₀ was carried out. Both cryoprotectors showed appropriate stability results in a ratio of 1 : 4 to lipids. As a conclusion, liposomal oxaliplatin is a prospective medicine with less toxicity and higher efficiency against tumors in comparison with a free oxaliplatin.

Keywords: oxaliplatin, phospholipids, drug substances, liposomal preparations, pharmaceutical industry.

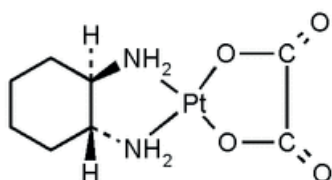
Борьба с онкологическими заболеваниями является одним из актуальных вопросов современной фармации. Лекарственные средства на основе платины широко применяются в борьбе с раковыми заболеваниями и могут использоваться как в моно-терапии, так и в комбинации с другими лекарствен-

ными средствами или ионизирующим излучением [1, 2]. Применение препаратов платины в онкологии началось с препарата цисплатина, противоопухолевые свойства которого были открыты в 1968 году, а с 1971 года его стали использовать в клинической практике [3]. С 1978 года и по сегодняшний день

цисплатин является одним из наиболее широко используемых химиотерапевтических агентов [4]. В настоящее время препараты платины применяют при химиотерапии мелкоклеточного рака легкого в сочетании с другими препаратами, и они показывают значительную противоопухолевую активность в отношении этого, на данный момент практически неизлечимого заболевания [5].

Применение цисплатина ограничено возникновением устойчивости опухолей к препарату, а также его токсичностью, что вызвало поиск новых платиносодержащих препаратов, которые были бы эффективны как цисплатин и в то же время не обладали его недостатками. В 1990 году были проведены доклинические испытания нового платиносодержащего препарата – оксалиплатина, которые показали, что он проявляет активность по отношению к опухолям, обладающим устойчивостью к цисплатину. В комбинации с цитостатическими агентами, такими как 5-фторурацил и иринотекан, оксалиплатин проявляет синергизм в отношении пролиферации в тестах *in vivo* и *in vitro* при использовании в первой и второй линиях химиотерапии колоректального рака [6].

Оксалиплатин является координационным платиносодержащим лекарственным агентом третьего поколения [7] и представляет собой стереоизомер, в молекуле которого центральный атом платины окружен лигандами – оксалатом и 1,2-диаминоциклогексаном, расположенными в *транс*-положении:



Структурная формула оксалиплатина.

Фармакологическое действие оксалиплатина обусловлено взаимодействием с ДНК за счет образования внутриспиральных и межспиральных связей, что приводит к препятствованию репликации и ингибированию синтеза белка [8, 9].

Однако было отмечено, что оксалиплатин, как и другие медикаменты-цитостатики, проявляет значительную токсичность, включающую нейротоксичность, кардиотоксичность и гастроэнтерологические проявления [10]. Кроме того, неселективный характер терапии цитостатиками влияет не только на опухолевые, но и на здоровые ткани, приводя к ряду побочных действий. При некоторых видах злокачественных новообразований эффективность химиотерапевтических агентов значительно падает из-за затрудненной доставки в целевой орган в эффективной концентрации [11]. Ввиду токсических

проявлений, в клинических условиях необходимо уменьшать дозу активных веществ, тем самым снижая эффективность терапии и не позволяя лекарственному средству в полной мере раскрыть свой потенциал. Прием лекарств, направленных на снижение побочного действия, также увеличивает нагрузку на организм.

Одним из перспективных путей уменьшения токсичности и повышения избирательности для веществ-цитостатиков при проведении терапии является создание липосомальных транспортных систем [12]. В настоящее время на рынке уже присутствуют липосомальные формы лекарственных средств, такие как “Doxil” – липосомальная форма доксорубицина, “Visudyne” – липосомальная форма вертепорфина, “Marqibo®” – липосомальная форма винкристина, которые используются в условиях клиники, демонстрируя высокую эффективность при проведении терапии [13–15].

В связи с особенностями строения опухолевая ткань имеет специфическую, по сравнению со здоровой тканью, эндотелиальную выстилку сосудов. В то время как здоровые ткани имеют расстояние между эндотелиальными клетками до 150 нм (например, в случае клеток печени и селезенки), в опухолевой ткани это расстояние может составлять от 600 до 800 нм. Такое строение аномально развивающихся тканей позволяет говорить об эффекте пассивной накапливаемости [16, 17]. Наночастицы, загруженные лекарственным средством, с размерами 150–200 нм могут проникать через эндотелиальную выстилку капилляров и, благодаря недостатку лимфатического дренажа, накапливаться в опухоли, приводя тем самым к концентрированию лекарственного вещества в ткани-мишени [18, 19].

Липосомы представляют собой продукт нанобиотехнологии и являются сферическими наночастицами, сформированными из фосфолипидного бислоя [20, 21]. «Строительным материалом» для липосом служат фосфолипиды, из которых состоят мембраны клеток организма. При клиническом применении липосомы не только выполняют функции транспортных систем, но и служат источником фосфолипидов для мембран [22]. Липосомы сливаются с клетками, высвобождая в них свое содержимое таким образом, доставляя лекарственные вещества в орган, нуждающийся в терапии [23].

Существует много методов получения липосом, но наибольшее распространение получили следующие три: метод липидной пленки, обращенно-фазовый метод, метод химического градиента ионов. Метод липидной пленки, или «классический» метод получения липосом, представляет собой метод пассивной инкапсуляции. Он включает получение пленки фосфолипидов и ее дальнейшую гидратацию буферным раствором с лекарственным средством. В результате гидратации получается эмуль-

сия, которую подвергают обработке ультразвуком или экструзии для получения липосом требуемого размера. Обращенно-фазовый метод также является методом пассивной инкапсуляции, при котором липиды растворяются в органическом растворителе и добавляются к водной фазе, содержащей растворенное лекарственное средство. Далее органическую фазу удаляют под пониженным давлением, а полученную эмульсию обрабатывают ультразвуком или экструзией для получения липосом требуемого размера. Метод химического градиента ионов является методом активной загрузки действующего вещества и включает получение липидной пленки и ее гидратацию буферным раствором, содержащим компоненты, реагирующие путем обмена ионов или комплексообразования с активной субстанцией. После получения липосом внешний буфер заменяют на нейтральный. При добавлении к таким липосомам лекарственного средства оно диффундирует во внутреннее пространство липосом через фосфолипидную мембрану и связывается с компонентами внутреннего буфера. После связывания внутри липосом активное вещество теряет способность выходить во внешний буфер, тем самым смещая равновесие «вещество внутри липосомы ↔ вещество снаружи липосомы» в сторону инкапсулированной формы [24].

Для проявления эффекта пассивного накопления необходимо длительное время нахождения липосом в кровяном русле. Препятствование захвата липосом ретикулоэндотелиальной системой достигается путем модификации поверхности полимером – полиэтиленгликолем (ПЭГ) или его производными [25]. Подобная модификация экранирует липосомы от ретикулоэндотелиальной системы, тем самым уменьшая возможность преждевременных реакций *in vivo* и увеличивая вероятность попадания загруженных липосом в целевой орган [26].

Для получения липосомальной формы оксалиплатина были использованы липосомы, покрытые полиэтиленгликолем, состоящие из фосфатидилхолина (PC) : холестерина (Chol) : дистеароилфосфатидилэтанолamina, конъюгированного с полиэтиленгликолем с молекулярной массой 2000 (DSPE-PEG₂₀₀₀), в мольном соотношении 2 : 1 : 0.2. Липосомы получали путем растворения липидов в хлороформе с добавлением раствора оксалиплатина 1 мг/мл в 5% декстрозе. Объем водной фазы по отношению к органической составлял 1 : 3. Полученную эмульсию подвергали обработке ультразвуком в течение 10 мин при 40 Вт, далее органическую фазу удаляли на роторном испарителе при 40°C под вакуумом в течение 2 ч. Полученные липосомы были подвергнуты экструзии через поликарбонатный фильтр с размером пор 100 нм. Свободный оксалиплатин отфильтровывали методом ультрафильтрации через колонку с порогом отсека 100 кДа в течение 20 мин. В результате были получены липосомы с размером частиц

151.56±15.57 нм. Инкапсуляция полученных липосом составляла 42.96±6.45% [27].

Проведенное изучение кинетики высвобождения оксалиплатина в условиях *in vitro* показало, что высвобождение вещества из липосом за 120 ч инкубации происходит до 89%. Было проведено изучение противоопухолевого эффекта липосом в условиях *in vivo*, на мышах с привитой опухолью человеческой карциномы линии SW480. Следует отметить, что в контрольной группе мышей, не подвергавшихся терапии, отмечалась кахексия, в то время как в группах, получавших свободный оксалиплатин и липосомальный оксалиплатин, не отмечалось значительной потери веса. На 40-й день наблюдения относительный объем опухоли составил 8 отн. ед. для контрольной группы, не получавшей лечения, 6.1 отн. ед. для группы, получавшей свободный оксалиплатин, и 4.5 для группы, получавшей липосомы с оксалиплатином [27]. Флуоресцентное исследование *in vivo*, проведенное на мышах с привитой опухолью линии SW-480, с использованием липосом, приготовленных с добавлением флуоресцентного красителя, показало максимальное аккумулялирование липосом в опухоли на 24-й час после инъекции. На 72-й час после инъекции была замечена флуоресценция, показывающая, что липосомы всё еще находятся в опухоли [27]. В сравнении со свободной формой оксалиплатина был отмечен более высокий цитостатический эффект липосомально инкапсулированного оксалиплатина при испытании на клетках человеческой карциномы SW-480 в эксперименте *in vitro* [28].

В работе [28] показана эффективность липосом с оксалиплатином, однако в ней не приведены данные о включении оксалиплатина в лекарственное средство и его стабильности. Следует отметить, что при воспроизведении нами предлагаемой авторами технологии инкапсуляция составила не более 10%, что может говорить о плохой воспроизводимости предложенной методики и ее «технологической нестабильности».

К недостаткам применения ПЭГ можно отнести данные о возникновении дерматитов, или «синдрома диабетической стопы», появляющихся после лечения препаратами, содержащими ПЭГ-конъюгированные липиды. Так, при приеме липосомальной лекарственной формы доксорубина, содержащей полиэтиленгликоль, в 17.5% случаев было отмечено возникновение побочных дерматологических эффектов [29].

Группой авторов были проведены исследования по выбору оптимального метода получения липосомальной формы оксалиплатина [30]. При проведении исследований были апробированы уже упомянутые методы получения липосом: метод липидной пленки, обращенно-фазовый метод и метод химического градиента ионов. При апробации метода липидной пленки выбранные липиды (табли-

ца) были растворены в хлороформе, затем растворитель был удален при пониженном давлении до образования липидной пленки, которая затем была гидратирована раствором оксалиплатина 2 мг/мл в 5% глюкозе. Полученная эмульсия была обработана ультразвуком в течение 1 мин. Липосомы были получены методом экструзии, при помощи поликарбонатных мембран с диаметром пор 100 нм. При апробации обращенно-фазового метода липиды были растворены в смеси хлороформ : диэтиловый эфир в соотношении 1 : 2 (об./об.) и добавлены к 5% раствору глюкозы, содержащему оксалиплатин в концентрации 4 мг/мл. Соотношение между органической и водной фазами составило 3 : 1. Полученная эмульсия была обработана при помощи ультразвука в течение 5 мин. Органическую фазу удаляли при помощи роторного испарителя. Липосомы получали методом экструзии при помощи поликарбонатных мембран с диаметром пор 100 нм. При получении липосом методом химического градиента ионов липидная пленка была гидратирована в цитратном буфере с pH 4.0. Эмульсия была обработана ультразвуком в течение 1 мин. Липосомы были получены методом экструзии при помощи поликарбонатных мембран с диаметром пор 100 нм, а избыток цитратного буфера был заменен на буфер HEPS с pH 7.8 методом ультрафильтрации, на мембранах с пределом отсечения 10 кДа. Был добавлен оксалиплатин до достижения конечной концентрации 2 мг/мл в 5% глюкозе. Полученная эмульсия была инкубирована при 60°C в течение 30 мин, а затем охлаждена до 4°C. Во всех методах неинкапсулированный оксалиплатин был удален методом ультрафильтрации. Липосомы были двух разных типов: нейтральные, на основе PC, и катионные, с добавлением 1,2-диолеоилокси-3-[триметиламино]-пропана (DOTAP). В таблице представлены данные о размере и эффективности инкапсуляции липосом, полученных при помощи трех различных методов.

Из таблицы видно, что максимальные показатели инкапсуляции были у липосом из PC, полученных методом липидной пленки.

Сравнительные характеристики липосом, полученных тремя различными методами

Метод получения / состав липосом	Размер, нм	Эффективность инкапсуляции, %
Метод липидной пленки		
PC	112.4	36.74
DOTAP	119.3	30.1
Обращенно-фазовый метод		
PC	160.1	30.44
DOTAP	132.7	26.78
Метод химического градиента ионов		
PC	108.3	22.15
DOTAP	117.9	27.08

После проведенного скрининга было исследовано влияние Chol на стабильность липосом, модифицированных фосфолипидами с пришитым полиэтиленгликолем 2000 (DSPE-PEG₂₀₀₀). Исследования стабильности проводили на липосомах с двумя различными составами 1) HSPC : DSPE-PEG₂₀₀₀ и 2) HSPC : Chol : DSPE-PEG₂₀₀₀ (HSPC – hydrogenated soybean phosphatidyl choline, фосфатидилхолин из соевых бобов), с концентрацией холестерина 40%. Было показано, что присутствие Chol положительно влияет на стабильность липосом с оксалиплатином. Исследования проводили на липосомах со 100% инкапсуляцией, в течение 24 ч при инкубации при 37°C в условиях *in vitro*. По истечении этого срока инкапсуляция для липосом 1-го состава составляла 64.9%, а для липосом 2-го состава – 72.8%, что является подтверждением более высокой стабильности липосом, в составе которых присутствует Chol.

Для липосом состава HSPC : Chol : PEG₂₀₀₀ были проведены исследования влияния процесса лиофилизации с криопротектором двух различных типов и отсутствие криопротектора на стабильность размеров липосом. В качестве криопротектора были использованы: трегалоза, в соотношении углеводов : липиды 4 : 1 по массе; и L-аргинин, в соотношении аминокислота : липиды 4 : 1 по массе. Размер липосом до лиофилизации составлял 122.9 нм, после лиофилизации без криопротектора размер увеличился до 384.8 нм. При использовании трегалозы и L-аргинина в качестве криопротекторов размеры после лиофилизации составили 102.3 и 131.7 нм, соответственно, что доказывает эффективность использования выбранных криопротекторов.

Цитотоксичность полученных липосом была исследована на двух линиях клеток колоректального рака HCT-116 и HT-29. При этом было отмечено, что клетки линии HCT-116 более чувствительны к оксалиплатину, чем клетки линии HT-29 [30].

Активность липосом состава HSPC : Chol : DSPE-PEG₂₀₀₀ с оксалиплатином была изучена на мышцах с привитыми опухолевыми клетками линии HT-29. Введение животным лекарства проводилось внутривенно, в два приема – на 15-й и 22-й день с начала эксперимента по привитию опухолей. Было показано, что липосомы с оксалиплатином подавляют рост опухоли более эффективно, чем свободный оксалиплатин. Объем опухоли для мышей, получавших липосомальный оксалиплатин, составлял на 32-й день эксперимента около 580 мм³, получавших свободный оксалиплатин – около 1250 мм³, против 1500 мм³ у мышей контрольной группы, не получавших лекарств. Кроме того, количество оксалиплатина, найденное в опухоли по завершению эксперимента, для животных, получавших липосомальную форму оксалиплатина, было в 3 раза выше, чем для животных, получавших свободный оксалиплатин – 560±200 нг/мг ткани против 190±101 нг/мг ткани [30].

В работе [30] проведено сравнение трех различных методов получения липосом с оксалиплатином и показана эффективность липосомальной формы с полимерным покрытием в условиях *in vivo*. Однако вызывает опасение использование ПЭГ и его производных, вызывающих дерматологические побочные реакции [29]. Также не было проведено исследование стабильности оксалиплатина и наличия примесей в полученных липосомах. В американской фармакопее при растворении навески субстанции оксалиплатина рекомендуется крайне осторожно применять ультразвуковую обработку, которая потенциально может привести к разрушению молекулы оксалиплатина и образованию посторонних примесей в препарате [31].

Для изучения активности липосомального оксалиплатина в условиях *in vivo* были приготовлены липосомы состава HSPC : Chol : DSPE-PEG₂₀₀₀ в мольном соотношении 2 : 1 : 0.2. Липиды были растворены в смеси хлороформ : диэтиловый эфир 1 : 2 (об./об.). Затем был добавлен раствор оксалиплатина 8 мг/мл в 5% растворе декстрозы. Соотношение водной и органической фаз было 3 : 1. Эмульсию обрабатывали ультразвуком в течение 15 мин. Остаточное количество органических растворителей удаляли на ротаторном испарителе, при пониженном давлении и температуре 40°C в течение 1 ч. Липосомы были получены методом экструзии, с помощью поликарбонатных фильтров с диаметром пор 200 нм при 65°C. Инкапсуляция составила около 20%. Неинкапсулированный оксалиплатин удаляли путем диализа с помощью диализных кассет Slyde-A-Lyzer, с пределом отсека 10 000 кДа. Внешний раствор заменяли на 5% раствор декстрозы. После приготовления размер частиц составил 185±48 нм [32].

Цитотоксичность полученных липосом с оксалиплатином изучали на трех линиях опухолевых клеток: C26 – мышинных клетках линии колоректальной карциномы, LLC – клетках линии легочной карциномы Льюиса и B16BL6 – линии клеток мышинной меланомы. Клетки были чувствительны к полученным липосомам с оксалиплатином, наибольшую чувствительность показали клетки линии B16BL6, наименьшую – клетки линии C26.

Изучение подавления противоопухолевого роста изучали на имеющихся линиях клеток, привитых мышам. Эффект был различен и составлял для привитых клеток линии C26 – 52.9%, для привитых клеток линии LLC – 59.4% и для привитых клеток линии B16BL6 подавление составило 18.8%. Проведенные эксперименты *in vivo* нечетко коррелировали с полученными данными о токсичности липосомальной формы оксалиплатина на линии клеток в экспериментах *in vitro* [32].

Проведенные работы показали эффективность полученных липосом с оксалиплатином, однако остается открытым вопрос о составе примесей, ввиду интенсивного использования ультразвука и высокой температуры на стадии приготовления липосом.

Был проведен ряд аналогичных работ по получению липосом с оксалиплатином с использованием ультразвука и инкубированием в течение значительного времени при высоких температурах [33–36]. Однако в этих работах не представлены данные по составу примесей оксалиплатина в готовых липосомах, что не позволяет использовать эти методы получения в промышленном масштабе.

В работе [37] было апробирован подход к созданию липосомальной формы оксалиплатина обращенно-фазовым методом с привитым белком трансферрином. Смесь липидов: DSPC : Chol : DSPE-PEG-Methyl Ester : DSPE-PEG-COOH в соотношении 1 : 1 : 0.19 : 0.01 (массовых) была растворена в смеси хлороформ – изопропиловый эфир. В раствор был добавлен раствор оксалиплатина 8 мг/мл в 9% сахарозе и обработан при помощи ультразвука. Далее органическая фаза была удалена на ротаторном испарителе при пониженном давлении при 60°C, и для окончательного удаления органических растворителей был проведен 5-ти-кратный процесс экструзии. Полученная эмульсия была подвергнута экструзии при 60°C для получения липосом. Белок трансферрин был конъюгирован при помощи 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида-гидрохлорида и *N*-гидроксисульфосукцинимидом. После инкубирования при комнатной температуре раствор был центрифугирован при 200 000 g в течение 30 мин. Осадок был ресуспендирован в 9% сахарозе. Размер липосом составил 184.7 нм, инкапсуляция оксалиплатина – 14.8±2.26 мкг/мл липидов. При проведении эксперимента *in vivo* было показано уменьшение побочных эффектов в случае лечения липосомальным препаратом, по сравнению с контрольной группой. Однако в представленной технологии существуют значительные недостатки – инкубирование при высокой температуре – 60°C, обработка ультразвуком, что потенциально приводит к деградации оксалиплатина и образованию примесей. Изучение состава примесей в работе не проводилось.

Таким образом, несмотря на большое количество проведенных исследований, на рынке в данный момент отсутствуют доступные апробированные липосомальные формы оксалиплатина. Лабильная комплексная молекула оксалиплатина требует создания щадящего метода получения липосомальной формы, в то же время обеспечивающего высокие значения инкапсуляции. Планируется провести работу по созданию лекарственной липосомальной формы оксалиплатина, которая соответствовала бы требованиям современной фармацевтической индустрии.

Список литературы:

1. Andrews P.A., Jones J.A., Varki N.M., Howell S.B. // Cancer Commun. 1990. V. 2. P. 93–100.
2. Palma M.D., Lombardi G., Donach M.E.,

- Borgato L., Zustovich F., Furini L., Nicoletto M. // *Am. J. Clin. Oncol.* 2011. V. 34. P. 305–308.
3. Rixe O., Ortuzar W., Alvarez M., Parker R., Reed E., Paull K., Fojo T. // *Biochem. Pharmacol.* 1996. V. 52. P. 1855–1865.
4. Stotdal B., Pavlakakis N., Davey R. // *Cancer Treatment Rev.* 2007. V. 33. P. 347–357.
5. Scagliotti G.V. // *Seminars in Oncology.* 2005. Supl. 2. S5–S8.
6. Bleiberg H. *British J. // Cancer.* 1998. V. 77. P. 1–3.
7. Burger H., Loos W.J., Eechoute K., Verweij J., Mathijssen R., Wiemer E. // *Drug Resistance Updates.* 2011. V. 14. P. 22–34.
8. Ibrahim A., Hirschfeld S., Cohen M.H., Griebel D.J., Williams G.A., Pazdur R. // *Oncologist.* 2004. V. 9. P. 8–12.
9. Pessino A., Sobrero A. // *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2006. V. 6. P. 801–812.
10. Pasetto L.M., D'Andrea M.R., Rossi E., Monfardini S. // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2006. V. 59. P. 159–168.
11. Pietrangeli A., Leandri M., Terzoli E., Jandolo B., Garufi C. // *Eur. Neurol.* 2006. V. 56. P. 13–16.
12. Краснополяский Ю.М., Степанов А.Е., Шве́ц В.И. // *Биофарм. журн.* 2011. Т. 3. № 2. С. 10–18.
13. James N.D., Coker R.J., Tomlinson D., Harris J.R.W., Gompels M., Pinching A.J., Stewart J.S.W. // *Clinical Oncology.* 1994. V. 6. P. 294–296.
14. Ichikawa K., Takeuchi Y., Yonezawa S., Hikita T., Kurohane K., Namba Y., Oku N. // *Cancer Lett.* 2004. V. 205. P. 39–48.
15. Deitcher O.R., Glaspy J., Gonzalez R., Sato T., Bedikian A.Y., Segarini K., Silverman J., Deitcher S.R. // *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia.* 2014. V. 14 (3). P. 197–202.
16. Greish K. // *Methods Mol. Biol.* 2010. V. 624. P. 25–37.
17. Maeda H., Bharate G.Y., Daruwalla J. // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2009. V. 71. P. 409–419.
18. Caraglia M., Marral M., Misso G., Lamberti M., Salzano G., De Rosa G., Abbruzzese A. // *Curr. Drug Metabolism.* 2012. V. 13. P. 4–21.
19. Северин Е.С., Родина А.В. // *Успехи биолог. химии.* 2006. Т. 46. С. 43–64.
20. Шве́ц В.И., Каплун А.П., Краснополяский Ю.М., Степанов А.Е., Чехонин В.П. // *Рос. нанотехнологии.* 2008. Т. 3. № 11–12. С. 52–66.
21. Дудниченко А.С., Краснополяский Ю.М., Шве́ц В.И. *Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике.* Харьков: Изд. группа «РА-Каравелла», 2001. 143 с.
22. Poste G., Papahadjopoulos D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1976. V. 73. P. 1603–1607.
23. Dunnick J.K., Rooke J.D., Aragon S., Kriss J.P. // *Cancer Res.* 1976. V. 36. P. 2385–2389.
24. Gregoriadis G. *Liposome Technology.* V. 1. *Liposome Preparation and Related Techniques.* London: Healthcare, 2007. 324 p.
25. Allen T.M., Hansen C., Martin F., Redemann C., Yau-Young A. // *Biochim Biophys. Acta.* 1991. V. 1066. P. 29–36.
26. Klivanov A.L., Maruyama K., Beckerleg A.M., Torchilin V.P., Huang L. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1991. V. 1062. P. 142–148.
27. Yang C., Liu H., Fu Z.X., Lu W.D. // *BMC Biotechnology.* 2011. V. 11. P. 21–29.
28. Yang C., Liu H., Fu Z.X. // *Cell Biol. Int.* 2012. V. 36. P. 289–296.
29. Alberts D.S., Garcia D.J. // *Drugs.* 1997. V. 54. Suppl. 4. P. 30–35.
30. Zalba S., Navarro I., Troconiz I.F., Tros de Ilarduya C., Garrido M.J. // *Eur. J. Pharmaceut. & Biopharmaceut.* 2012. V. 81. P. 273–280.
31. <http://www.usp.org/usp-nf/official-text>.
32. Amr-Lila A., Matsumoto H., Doi Y., Nakamura H., Ishida T., Kiwada H. // *Eur. J. Pharmaceut. & Biopharmaceut.* 2012. V. 81. P. 524–531.
33. Abu-Lila A., Kizuki S., Doi Y., Suzuki T., Ishida T., Kiwada H. // *J. Control. Release.* 2009. V. 137. P. 8–14.
34. Abu-Lila A., Suzuki T., Doi Y., Ishida T., Kiwada H. // *J. Control. Release.* 2009. V. 134. P. 18–25.
35. Yang C., Liu H., Lu W.D., Fu Z.X. // *Oncology Rep.* 2011. V. 25. P. 1621–1628.
36. Yang C., Liu H., Fu Z.X. // *Oncology Rep.* 2012. V. 28. P. 1006–1012.
37. Eriguchi M., Fujisawa T., Maruyama K., Yanagie H. *Oxaliplatin containing liposome preparation: Int. Pat. # EP 1369132 A1.* 2002.